Gélose MRS

DOMAINE D'UTILISATION

La gélose MRS (de De Man, Rogosa et Sharpe) est utilisée pour la culture et le dénombrement des *Lactobacillus* dans les produits laitiers et les autres produits alimentaires ainsi que dans les produits destinés à l'alimentation animale. Ce milieu permet de cultiver des germes à croissance ralentie tels que *Lactobacillus brevis* et *Lactobacillus fermentum*. Acidifié à pH 5,4, il permet également de dénombrer *Lactobacillus bulgaricus* dans les yaourts. D'après la norme NF ISO 15214 pour le dénombrement des bactéries lactiques mésophiles, la gélose MRS doit être utilisée à pH 5,7. Si une contamination de l'échantillon à analyser par des levures est à craindre (par exemple dans le cas des saucissons secs), il est utile d'ajouter de l'acide sorbique au milieu, de façon à les inhiber. Par adjonction de 0,1 mg de Clindamicine et de 10 mg de Ciprofloxacine par litre, on obtient un milieu dénommé MRS/CL/CIP Agar destiné à numérer sélectivement *Lactobacillus acidophilus* dans les produits laitiers, ceci suivant la norme ISO 20128/IDF 192.
Dans le cadre des analyses des produits destinés à l'alimentation animale, la gélose MRS doit être utilisée aux pH préconisés par les normes en vigueur.

HISTORIQUE

En 1960, de Man, Rogosa et Sharpe ont développé la formulation d'un milieu spécialement adapté aux cultures des lactobacilles provenant de produits laitiers, ceci sans rajouter de jus de tomate (ingrédient de composition très variable).

PRINCIPES

- La peptone, le glucose et les sels de manganèse et de magnésium apportent les éléments nutritifs indispensables à la croissance des lactobacilles.
- Le Tween 80, mélange d'esters oléiques, est une source d'acides gras nécessaires à la croissance de ces germes.
- Le phosphate dipotassique contribue à stabiliser le pH au cours de la croissance bactérienne.
- Le citrate d'ammonium et l'acétate de sodium constituent les substances inhibitrices du développement de la plupart des contaminants tels que les streptocoques et les moisissures.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

PREPARATION

- Mettre en suspension 70,3 g de milieu déshydraté (BK089) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution. Une liquéfaction partielle de l'agar entraînera inévitablement une altération significative de la consistance du gel du milieu solidifié, après stérilisation et refroidissement.
- Ajuster au pH convenant au produit à analyser :
    - Dans le cas de l'analyse des yaourts, utiliser de l'acide acétique de façon à obtenir un pH final de 5,4 ± 0,1.
    - Pour le dénombrement des bactéries lactiques mésophiles, il n'est pas nécessaire d'ajuster le pH du milieu.
    - Dans le cas de l'analyse des produits destinés à l'alimentation animale, utiliser une solution de soude de façon à obtenir un pH final de 6,5 ± 0,2 (NF EN 15785), 6,2 ± 0,2 (NF EN 15786 et NF EN 15787).
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

NOTE 1 :

En raison de son pH acide, le milieu est très sensible à la chaleur, c'est pourquoi le barème de stérilisation doit être parfaitement respecté.

NOTE 2 :

Avec le milieux prêt-à-liquéfier BM089 à pH 5,7 (ou bien si le milieu est préparé à l'avance à partir du milieu déshydraté), faire fondre la gélose pendant le minimum de temps nécessaire à la reliquéfaction totale. Ne pas répéter l'opération plus d'une fois.

MODE D'EMPLOI

- Refroidir et maintenir le milieu à 47°C.
- Ajouter, si nécessaire, les solutions antibiotiques souhaitées, telles que Clindamicine et/ou Ciprofloxacine. Dans ce cas, le milieu doit être ensemencé en surface, après séchage des boîtes de Pétri coulées.
- Transférer 1 mL du produit à analyser et de ses dilutions décimales dans des boîtes de Petri stériles.
- Couler 15 mL de milieu.
- Homogénéiser parfaitement.
- Laisser solidifier sur une surface froide.
- Placer les boîtes ensemencées dans les conditions spécifiées dans le mode opératoire choisi.
- Incuber à 30 ou 37°C pendant 2 à 3 jours, suivant le cas.

LECTURE

Procéder au comptage des colonies pour chaque boîte contenant 300 colonies au maximum. En raison de la possibilité de développement de germes autres que les bactéries lactiques, il peut être nécessaire, dans certains cas, de vérifier au microscope qu'il s'agit bien de bacilles à Gram positif, non sporulés.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

FORMULE - TYPE

(pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales)

Pour 1 litre de milieu :

- Polypeptone ..... 10,00 g
- Extrait de viande ..... 10,00 g
- Extrait autolytique de levure ..... 5,00 g
- Glucose ..... 20,00 g
- Tween 80 ..... 1,08 g
- Phosphate dipotassique ..... 2,00 g
- Acétate de sodium ..... 5,00 g
- Citrate d'ammonium ..... 2,00 g
- Sulfate de magnésium ..... 0,20 g
- Sulfate de manganèse ..... 0,05 g
- Agar agar bactériologique ..... 15,00 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 5,7 ± 0,1

CONTRÔLE QUALITE

- Milieu déshydraté : poudre crème, légèrement mottée, friable.
- Milieu préparé : gélose ambrée.
- Réponse culturale typique après 72 heures d'incubation en atmosphère CO_2 à 5%, à 30°C :

Microorganismes		Croissance (Rapport de productivité : P_R)
Lactobacillus casei subsp. *rhamnosus*	ATCC® 7469	$P_R \geq 70\%$
Lactobacillus plantarum	ATCC 8014	$P_R \geq 70\%$
Lactobacillus sake	CIP 103139T	$P_R \geq 70\%$
Escherichia coli	ATCC 25922	inhibée, score 0
Bacillus cereus	ATCC 11778	inhibée, score 0

STOCKAGE / CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-20°C.
- La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.
- Milieu préparé en flacons : 6 mois à 2-8°C (à titre indicatif).

Milieu prêt-à-liquéfier en flacons :
- Stocker entre 2 et 8°C, à l'abri de la lumière.
- Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.

PRESENTATION

	Code
Milieu déshydraté :	
- Flacon de 500 g	BK089HA
Milieu prêt-à-liquéfier (pH 5,7) :	
- Coffret de 10 flacons de 200 mL	BM08908

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

SUPPORT PHOTO :

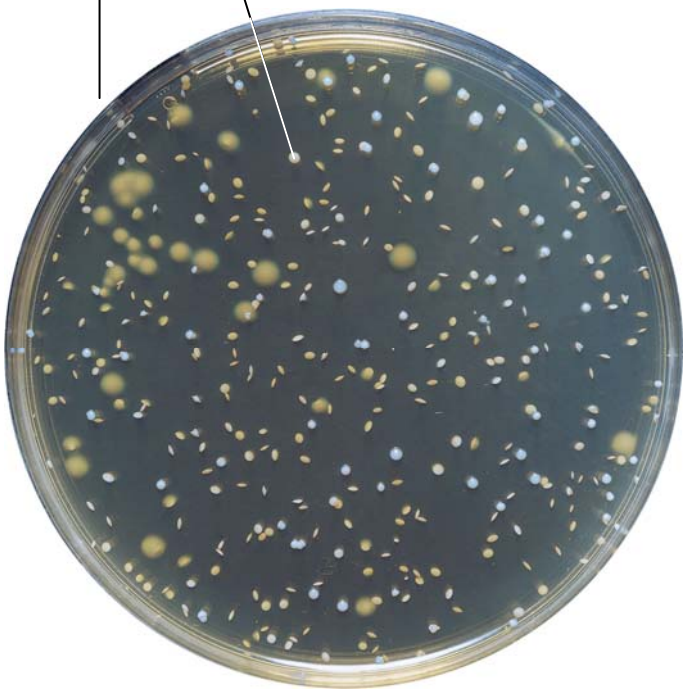
Référence : BK089HA, BM08908

Domaine d'utilisation : Dénombrement des bactéries lactiques.

Lactobacillus casei subsp. ***rhamnosus***

Colonie caractéristique

Colonies blanches de taille uniforme.



Gélose MRS

Réf : BM08908

Incubation 72 heures à 30°C (sous atmosphère CO_2 à 5%)

Colonies caractéristiques blanches de taille uniforme. Les colonies qui se trouvent soit en surface de la gélose, soit au fond de la boîte ont tendance à plus s'étaler du fait de l'absence d'agar.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

De Man, J.C., Rogosa, M., and Sharpe, M.E. 1960. A medium for the cultivation of lactobacilli. J. App. Bacteriol., 23, (1): 130-135.

Journal Officiel du 4 janvier 1978. Méthode officielle d'analyse pour le dénombrement de la flore spécifique du yaourt ou yoghourt. (arrêté du 25 Novembre 1977).

NF V 04-503. Septembre 1988. Viandes et produits à base de viande. Dénombrement des Bactéries lactiques.

FIL-IDF 149A. Juillet 1997. Levains lactiques de cultures de bactéries lactiques. Norme de composition.

NF ISO 15214 (V 08-030). Septembre 1998. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement des bactéries lactiques mésophiles. Technique par comptage des colonies à 30 °C.

ISO 7889 / IDF 117. Février 2003. Yaourt. Dénombrement des micro-organismes caractéristiques. Technique de comptage des colonies à 37 °C.

XP CEN ISO/TS 11133-2 (V 08-104-2). Janvier 2004. Microbiologie des aliments. Guide pour la préparation et la production des milieux de culture. Partie 2 : Guide général pour les essais de performance des milieux de culture.

ISO 20128 / IDF 192. Mai 2006. Produits laitiers. Dénombrement de *Lactobacillus acidophilus* présomptifs sur un milieu sélectif. Technique de comptage des colonies à 37 °C.

NF EN 15785 (V 18-238). Décembre 2009. Aliments des animaux. Isolement et dénombrement du *Bifidobacterium* spp.

NF EN 15786 (V 18-230). Décembre 2009. Aliments des animaux. Isolement et dénombrement du *Pediococcus* spp.

NF EN 15787 (V 18-231). Décembre 2009. Aliments des animaux. Isolement et dénombrement du *Lactobacillus* spp.

Les mentions portées sur les étiquettes sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document.
Les informations et les spécifications contenues dans cette fiche technique ont été établies à la date du 2010-01-13.
Elles sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.
Code document BK089/F/2003-10 : 7.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr